

ผลการเสริมบีเทนในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิต โลหิตวิทยา คุณภาพไข่
ระดับคอเลสเตอรอล และกรดไขมันในไข่แดง

Effects of Betaine Supplementation in Laying Hen Diets on Productive Performance,
Hematology, Egg Quality, Cholesterol and Fatty Acid Profile in Yolk

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี^{1*} สิทธิศักดิ์ จินพงษ์พันธุ์¹ พรพัชรา นารโท¹ ศรัณย์ หุ่นจันทร์¹

อรอุมา รุ่งจักรวาลชัย¹ อณัญญา ปานทอง² และวารางคณา กิจพิพิธ¹

Manatsanun Nopparatmaitree^{1*}, Sitthisak Jeenpongpan¹, Pornphatchara Naratho¹

Saran Hoonjun¹, Oruma Rungjakkawanchai¹, Anunya Panthong² and Warangkana Kitpipit¹

¹คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี เพชรบุรี 76120

²คณะสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเพชรบุรี เพชรบุรี 76120

¹Faculty of Animal Science and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi IT Campus Phetchaburi, Thailand 76120

²Faculty of Animal Science, Petchaburi Collage of Agricultural and Technology, Phetchaburi, Thailand 76120

*Corresponding author: Nopparatmaitree_m@silpakorn.edu

Abstract

Betaine, is a trimethyl derivative of glycine and has methyl donor properties for remethylation of homocystine to methionine. In this experiment was studied the efficacy of providing betaine on productive performance, hematology, egg quality, cholesterol and fatty acid profile in yolk. A total three hundred laying hen (Hisex Brown[®]) at 20 week of age were randomly assigned to completely randomized design including of 3 treatments with 5 replications (n=20). Dietary treatment included the corn-soybean meal base diet (without betaine supplementation), and basal diet supplemented with 2 kg/ton diet from betaine hydrochloride and betaine anhydrous. The results showed that dietary supplementation of betaine hydrochloride and betaine anhydrous increased egg weight, albumin weight, yolk weight and protein content in yolk and whole egg (P<0.05) but was not affected the productive performance (P>0.05). Moreover, inclusion of two source of betaine into the diets reduced H/L ratio, total cholesterol and triglyceride content (P<0.05) and increased HDL and free fatty acid content in blood (P<0.05). Likewise, two sources of betaine supplementation led to increases egg yolk linolenic acid (C18:3n3), DHA and omega 3 higher than control group (P<0.05).

Keywords: layer, fatty acid, eggs, egg quality, betaine, hematology, productive performance

บทคัดย่อ

บีเทนเป็นอนุพันธ์ไตรเมทิลของไกลซีนมีคุณสมบัติในการให้หมู่เมทิลสำหรับ Remethylation ของ Homocysteine เป็นเมทไธโอนีน การทดลองครั้งนี้ศึกษาประสิทธิภาพของการให้บีเทนต่อสมรรถภาพการผลิต โลหิตวิทยา คุณภาพไข่ คอเลสเตอรอล และกรดไขมันในไข่แดง โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ไฮเซคควาร์น จำนวน 300 ตัว อายุ 20 สัปดาห์ สุ่มเข้าสู่แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 3 ทรีทเมนต์ 5 ซ้ำ (n=20) โดยอาหารทดลองประกอบด้วยอาหารที่มีข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นพื้นฐาน (ไม่เสริมบีเทน) และอาหารพื้นฐานเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และบีเทนแอนไฮไดรส์ที่ระดับ 2 กก.ต่อตันอาหาร เท่ากัน ผลการทดลองพบว่า การเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และบีเทนแอนไฮไดรส์สามารถเพิ่มน้ำหนักไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง และระดับโปรตีนในไข่แดงและไข่ทั้งฟอง ($P<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิต ($P>0.05$) นอกจากนี้ การเสริมบีเทนทั้งสองชนิดในอาหารช่วยลด H/L ratio คอเลสเตอรอลรวมและไตรกลีเซอไรด์ ($P<0.05$) ในขณะที่ช่วยเพิ่มระดับ HDL และกรดไขมันอิสระในเลือด รวมทั้งช่วยเพิ่มระดับ Linolenic acid (C18:3n3), DHA, และ Omega 3 ในไข่แดงสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

คำสำคัญ: ไก่ไข่ กรดไขมัน ไข่ไก่ คุณภาพไข่ บีเทน โลหิตวิทยา สมรรถภาพการผลิต

คำนำ

การผลิตไก่ไข่ในปัจจุบันเป็นการเลี้ยงอย่างหนาแน่นบนกรงคอกที่มีพื้นที่การเลี้ยงไก่ต่อตัวจำกัด ทำให้ไก่ไข่ไม่สามารถเคลื่อนไหวร่างกายได้อย่างอิสระ ส่งผลทำให้มีการแสดงออกของพฤติกรรมตามธรรมชาติที่ลดลง ก่อปรกับประเทศไทยที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้น ที่มีความผันแปรของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างวันสูงมาก ซึ่งอาจส่งผลต่อการเกิดสภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน (Heat stress) จัดเป็นความท้าทายต่ออุตสาหกรรม

การเลี้ยงไก่ไข่ ทั้งนี้หากไก่ไข่อยู่ระหว่างการเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน พบว่าอุณหภูมิร่างกายของไก่ไข่จะสูงขึ้น มีอาการหอบเพิ่มขึ้น และมีการกินน้ำมากขึ้น ส่งผลต่อความเป็นกรดต่างของเลือดและความเจือจางของเลือด เช่น การลดลงของความเข้มข้นของไขมัน ระดับไขมัน pCO_2 , HCO_3 และอิเล็กโทรไลต์ (Na^+ , K^+ และ Cl^-) ในเลือด รวมถึงเกิดการสูญเสียน้ำอิเล็กโทรไลต์ (Sayed and Downing, 2011) รวมทั้งส่งผลต่อการกินอาหารที่ลดลง การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารลดลง ผลผลิตไข่ลดลง และส่งผลต่ออัตราการตายที่เพิ่มขึ้น ดังนั้น จึงจำเป็นต้องแสวงหาวิธีการเพื่อรับมือกับปัญหาดังกล่าวข้างต้น ซึ่งหนึ่งในวิธีการที่น่าสนใจ คือ การจัดการอาหารร่วมกับการเสริมบีเทนลงในอาหารไก่ไข่ เนื่องจากบีเทนเป็นไตรเมทิล (Trimethyl) ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดอะมิโนไกลซีนที่มี 2 ซ้ำ ประกอบด้วยหมู่เมทิลที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (Hydrophobic) 3 หมู่ และหมู่คาร์บอกซิลิกที่มีคุณสมบัติชอบไขมัน (Hydrophilic) 1 หมู่ และมีความสามารถในการให้หมู่เมทิล (Methyl donor) (Fu *et al.*, 2016) โดยหมู่เมทิลของบีเทนสามารถทำปฏิกิริยา Transmethylation สำหรับเมทาบอไลซึมต่างๆ เช่น การสังเคราะห์โปรตีน เมทาบอไลซึมพลังงาน (Park and Kim, 2017) นอกจากนี้ยังสามารถปรับสมดุลออสโมซิส (Osmo protectant) หรือช่วยปรับสมดุลของน้ำภายในร่างกาย และลดการสูญเสียน้ำ (Dehydrate) เพื่อรักษาความสมดุลภายในเซลล์ ซึ่งช่วยในการลดความเครียดของไก่ไข่ลง และประหยัดพลังงานในกระบวนการ Sodium-potassium pump ในช่วงอุณหภูมิสูง นอกจากนี้บีเทนยังสามารถให้หมู่เมทิลแก่ Dimethylethanolamine เปลี่ยนแปลงเป็น Trimethyl ethanolamine สำหรับการสังเคราะห์เลซิติน (Wang *et al.*, 2004) อีกทั้งบีเทนสามารถให้หมู่เมทิลทำให้โฮโมซิสทีนเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีน และเอซอะดีโนซิลเมทไธโอนีน ซึ่งเป็นหมู่เมทิลที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์นิทีน (Carnitine) (Cadogan *et al.*, 1993) ซึ่งทั้งเลซิตินและแอลคาร์นิทีนมีคุณสมบัติที่ประสานและส่งเสริมกัน (Synergistic effect) ในกระบวนการเมทาบอไลซึมของไขมัน กล่าวคือเลซิตินมีคุณสมบัติเป็น

สารอิมัลซิไฟเออร์ที่ช่วยในการดูดซึมไขมัน และแอลคาร์นิทีน มีหน้าที่ในการขนส่งกรดไขมันเพื่อเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย เพื่อสร้างพลังงานผ่านกระบวนการเบต้าออกซิเดชัน ดังนั้น การทำงานของสารทั้งสองชนิดดังกล่าวจึงส่งผลต่อการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้จากไขมันในสุตรอาหาร การลดการสะสมของไขมันในเลือด และการผลิตไข่ไก่ที่มีการสะสมไขมันที่สำคัญ รวมถึงการปรับปรุงสัดส่วนคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์ไข่ไก่เพื่อเป็นอาหารสร้างเสริมสุขภาพสำหรับผู้บริโภคที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Healthy food) (Van Elswyk, 1997) ทั้งนี้จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า การใช้บีเทนในอาหารให้ผลที่ดีในสัตว์หลายชนิด เช่น ไก่เนื้อ (Pillai *et al.*, 2006; Ratriyanto *et al.*, 2009) สุก (Albuquerque *et al.*, 2017) เป็ด (Wang *et al.*, 2004) และไข่ไก่ (Abobaker *et al.*, 2017) เป็นต้น โดยการเสริมบีเทนสามารถใช้ทดแทนเมทโรนินในอาหาร และให้ผลดีต่อสมรรถนะการผลิตเทียบเท่ากัน (Fu *et al.*, 2016) อีกทั้งยังช่วยลด H/L ratio ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดความเครียดเนื่องจากความร้อน (Awad *et al.*, 2014) การลดคอเลสเตอรอล (Idriss *et al.*, 2017; Albuquerque *et al.*, 2017) และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้บีเทนหลากหลายชนิด เช่น บีเทนไฮโดรคอลลอยด์ ซึ่งเป็นบีเทนที่นิยมใช้ในปศุสัตว์มากที่สุด และบีเทนแอนไฮดริส แต่ยังไม่นิยมแพร่หลายมากนัก เป็นต้น นอกจากนี้การทดลองเกี่ยวกับการเสริมบีเทนต่อการผลิตอาหารสร้างเสริมสุขภาพ คือ มีคุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่ ระดับคอเลสเตอรอล และการสะสมกรดไขมันในไข่แดงที่เหมาะสมสำหรับผู้บริโภคยังมีค่อนข้างน้อย ดังนั้น การทดลองครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาผลการเสริมบีเทนไฮโดรคอลลอยด์ และบีเทนแอนไฮดริสในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิต ซีรัมและโลหิตวิทยา คุณภาพทางกายภาพและคุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่ และการสะสมกรดไขมันในไข่แดง เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงไข่

อุปกรณ์และวิธีการ

การออกแบบการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยการทดลองครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 สิ่งทดลองๆ ละ 5 ซ้ำ (n=20) ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 อาหารไก่ไข่ควบคุม

สิ่งทดลองที่ 2 อาหารไก่ไข่เสริมบีเทนไฮโดรคอลลอยด์ที่ระดับ 2 กก. ต่อตัน

สิ่งทดลองที่ 3 อาหารไก่ไข่เสริมบีเทนแอนไฮดริสที่ระดับ 2 กก. ต่อตัน

ใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ Hisex Brown® อายุ 20 สัปดาห์ จำนวน 300 ตัว ทำการสุ่มไก่ไข่เข้าสู่หน่วยทดลอง หน่วยทดลองละ 20 ตัว โดยเลี้ยงบนกรงระดับขนาด 50x40x40 ซม. ภายใต้การจัดการและแสงธรรมชาติ ในโรงเรือนแบบเปิด ในระหว่างเดือนเมษายนถึงมิถุนายน พ.ศ. 2560 โดยทำการเสริมบีเทนไฮโดรคอลลอยด์ (99.30%) และบีเทนแอนไฮดริส (98.50%) ลงในอาหารไก่ไข่ระยะให้ไข่ ชนิดผงที่มีข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นพื้นฐาน มีโปรตีนหยาบ 18% พลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,850 กิโลแคลอรีต่อ กก. ตามคำแนะนำของ NRC (1994)

การบันทึกข้อมูลและสมรรถภาพการผลิตของไข่ไก่

เลี้ยงไก่ไข่บนกรงระดับขังเดี่ยวและทำการปรับสัตว์ก่อนเข้าสู่งานทดลอง (Adaptation period) ทั้งหมด 5 สัปดาห์ จากนั้นทำการวัดสมรรถภาพการผลิต โดยใช้เวลาทั้งหมด 12 สัปดาห์ โดยให้อาหารไก่ไข่วันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) ประมาณ 110 กรัมต่อตัวต่อวัน และให้ไก่ไข่ได้รับน้ำสะอาดอย่างเต็มที่ จัดบันทึกปริมาณอาหารที่กินได้ จำนวนผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ในแต่ละวัน ตลอดการทดลอง แล้วนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตไข่ (Hen-day production) น้ำหนักไข่เฉลี่ย (Average egg

weight) น้ำหนักไข่รวมเฉลี่ย (Egg mass) ปริมาณการกินได้ (Feed intake) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ 1 กก. (Feed conversion ratio per 1 kg of egg) ตามวิธีของ Elgin and Lorenz (2009)

โลหิตวิทยาและองค์ประกอบของกรดไขมันในเลือด

ในวันสุดท้ายของการทดลองทำการอดอาหารไก่ไข่เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วสุ่มไก่หน่วยทดลองละ 4 ตัว เพื่อกำหนดตัวอย่างเลือดโดยเจาะเลือดไก่บริเวณปีก (Wing vein) ตัวละ 2 มล. เพื่อนำมาวัดความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit; Hct) ค่าเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell: RBC) ค่าเม็ดเลือดขาว (White Blood Cell; WBC) เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล (Heterophil; H) และลิมโฟไซต์ (Lymphocyte; L) เพื่อนำไปหาสัดส่วน H/L Ratio นำซีรัมไปวิเคราะห์ค่าคอเลสเตอรอล (Cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) โดยใช้เครื่องตรวจเลือดอัตโนมัติ (Advia 120, Bayer, Tarrytown, NY) ด้วยวิธี Enzymatic colorimetric method (CHOD-PAP method) ตามวิธี Zhao and Kim (2017)

คุณภาพไข่ไก่ ระดับคอเลสเตอรอล และกรดไขมันในไข่แดง

วัดคุณภาพทางกายภาพของไข่ไก่ใน 7 วันสุดท้ายของการทดลอง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างไข่ไก่จำนวน 5 ฟองต่อวัน ในแต่ละหน่วยทดลองมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของไข่ไก่ คือ น้ำหนักไข่ (Egg weight) ความหนาของเปลือกไข่ (Egg shell thickness) ด้วย Micrometer (Mitumotoya, No. 044N, 0.01-5.0 mm) ความสูงไข่ขาว (Albumin height) ทำการวัดค่าคะแนนสีของเปลือกไข่ (Shell color) และค่าคะแนนสีของไข่แดง (Yolk color) ด้วยพัคสีที่มีค่าคะแนน 10-15 (Hoffman la Roche Ltd, Basal, Switzerland) คำนวณค่าความหนาแน่นของเปลือกไข่ (Shell density) และคำนวณค่า Haugh Unit (H.U. = $100 \log \{ \text{Albumen height in millimeter} + 7.57 \times 1.7 \text{ Weight of egg in gram}^{0.37} \}$)

ตามวิธี Laudadio and Tufarelli (2011) ทำการรวบรวมตัวอย่างไข่ขาว ไข่แดง และไข่รวม นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C . เพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในไข่ไก่ โดยการนำตัวอย่างไข่ขาว ไข่แดง และไข่รวมไปวิเคราะห์หาค่าวัตถุแห้ง อินทรีย์วัตถุ โปรตีนหยาบ และไขมันรวมตามวิธีของ AOAC (2000) ส่วนตัวอย่างไข่แดงวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลรวม โดยใช้ Cholesterol assay kit (Beijing Biological Technology Co., Beijing, China) วิเคราะห์ปริมาณของกรดไขมันโดยใช้ Gas chromatography (HP6890; Agilent, Waldbronn, Germany) ตามวิธีของ Lepage and Roy (1986) และคำนวณค่าดัชนีการเกิดภาวะไขมันสะสมในเส้นเลือด (Atherogenic index: AI) จากสูตร $\{AI = ((C12:0) + (4 \times C14:0) + C16:0) / (MUFA + PUFA)\}$, Δ -9 desaturase (16) Index จากสูตร $\{[\Delta$ -9 desaturase (16) Index = $\{C16:1n7 / (C16:0 + C16:1n7) \times 100\}$ และ Δ -9 desaturase (18) จากสูตร $\{[\Delta$ -9 desaturase (18) Index = $\{C18:1c9 / (C18:0 + C18:1c9) \times 100\}$ ตามวิธีของ He *et al.* (2015) นอกจากนี้คำนวณค่าไอโอดีน (Iodine value) จากสูตร $\{Iodine \text{ value} = (\% C16:1 \times 0.950) + (\% C18:1 \times 0.860) + (\% C18:2 \times 1.732) + (\% C18:3 \times 2.616) + (\% C20:1 \times 0.785) + (\% C22:1 \times 0.731)\}$ และคำนวณหาสัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัว จากสูตร $\{SFA \text{ to } USFA = (C16:0 + C18:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0 + C24:0) / (C16:1 + C16:2 + C16:3 + C18:1 + C18:2 + C18:3 + C20:1 + C20:3 + C20:4 + C20:5 + C22:4 + C22:6)\}$ ตามวิธีของ Zhai *et al.* (2008)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) โดยใช้แบบหุ่ $y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$ เมื่อ y_{ij} แทนค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ กำหนดให้ μ คือ ค่าเฉลี่ยร่วม (Common mean) ส่วน τ_i คือ อิทธิพลของทรีทเมนต์ (Treatment effect) ที่ i เมื่อ $i =$ การเสริมบีเทน 0 กก. ต่อต้นอาหาร การเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์ 2 กก. ต่อต้นอาหาร และการเสริมบีเทนแอนไฮดริส 2 กก. ต่อต้นอาหาร

ซ้ำที่ j เมื่อ $j = 1, 2, 3, 4$ และ 5 ส่วน ϵ_{ij} คือ ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มข้อมูลด้วย Turkey's honestly significant test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1992) โดยใช้โปรแกรม R version 3.3.1 ตามวิธีของ R Core Team (2016) กำหนดค่านัยสำคัญที่ใช้ในการทดสอบที่ $P < 0.05$ และ $P < 0.01$

ผลการวิจัย

สมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และบีเทนแอนไฮโดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อต้นอาหารมีปริมาณการกินได้ อัตราการผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ย น้ำหนักไข่รวม ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ 1 กก. และต้นทุนการผลิตไข่ 1 กก. ที่ใกล้เคียงกันกับไก่ไข่กลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 1

โลหิตวิทยา

ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮโดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก. ต่อต้น มีอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil ต่อ Lymphocyte (H/L ratio) ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับไก่ไข่กลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนค่าโลหิตวิทยาอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบของกรดไขมันในเลือดพบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮโดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก. ต่อต้น มีระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำกว่าไก่ไข่กลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) อีกทั้งยังพบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮโดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อต้น มีระดับ HDL และกรดไขมันอิสระในเลือดสูงกว่าไก่เนื้อกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) โดยไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองมีระดับ LDL และกลูโคสในเลือดไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 2

Table 1 Effect of betaine supplementation in laying hen diets on productive performance

Productive performance	Betaine supplementation in laying hen diets*			SEM	P-value
	Control	BC (2kg/ton)	BA (2kg/ton)		
Average daily feed intake (g/day)	95.11±7.00	91.27±5.09	97.66±8.59	2.28	0.55
Hen day production (%)	79.64±4.49	79.17±1.57	78.32±2.94	1.07	0.71
Average egg weight (g)	51.75±0.07	53.04±1.29	53.30±1.33	0.23	0.09
Egg mass (g/day)	41.05±2.12	41.98±0.55	40.98±0.84	0.45	0.63
Feed conversion ratio	1.94±0.05	1.93±0.22	1.91±0.09	0.04	0.55
Feed cost per 1 kg of egg (THB/1 kg of egg)	32.18±0.88	31.84±3.63	31.73±1.64	0.64	0.55

*BA = Betaine Anhydrous and BC = Betaine Hydrochloride

Table 2 Effect of betaine supplementation in laying hen diets on hematological value

Hematological value	Betaine supplementation in laying hen diets*			SEM	P-value
	Control	BC (2kg/ton)	BA (2kg/ton)		
Hematological characteristics					
Hematocrit (%)	27.33±1.25	29.00±1.41	29.67±3.68	0.80	0.51
Hemoglobin (g/dL)	9.29±1.38	10.46±0.51	10.80±1.44	0.32	0.17
RBC (x 10 ⁶ /uL)	1.89±0.03	2.01±0.12	1.98±0.24	0.05	0.68
WBC (1uL)	17066.66±2131.24	13700.00±1667.33	14900.00±2687.00	596.24	0.14
Heterophil (%)	53.33±1.98	49.33±7.40	45.66±2.62	1.85	0.31
Lymphocyte (%)	56.33±1.69	58.66±3.09	57.33±3.33	0.98	0.64
H/L Ratio	0.94 ^a ±0.01	0.84 ^b ±0.05	0.80 ^b ±0.08	0.02	0.02
Serum biochemical profile					
Cholesterol (mg/dL)	146.00 ^a ±8.60	130.66 ^b ±3.36	134.00 ^b ±6.37	1.95	0.04
HDL (mg/dL)	56.33 ^b ±3.09	62.00 ^a ±1.63	60.66 ^a ±1.69	0.75	0.04
LDL (mg/dL)	2.67±0.37	2.67±0.47	2.67±0.74	0.16	1.00
Triglyceride (mg/dL)	917.33 ^a ±17.17	792.66 ^b ±42.62	835.66 ^b ±46.59	14.11	0.02
FFA (uEq/L)	449.24 ^b ±1.12	464.15 ^a ±1.24	469.46 ^a ±1.56	7.51	0.04
Glucose (mg/dL)	178.35±1.27	174.41±1.11	175.52±1.09	4.70	0.82

*BA = Betaine Anhydrous and BC = Betaine Hydrochloride

^{a,b}Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.05).

คุณภาพไข่ไก่ ระดับคอเลสเตอรอลและกรดไขมัน ในไข่แดง

ไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮไดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน มีคุณภาพทางกายภาพของไข่ไก่ไม่ต่างกัน (P>0.05) แต่ไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน สามารถเพิ่มน้ำหนักไข่ทั้งฟอง น้ำหนักเปลือก น้ำหนักไข่ขาว และความสูงของไข่ขาวสูงกว่าไข่ไก่กลุ่มควบคุม (P<0.05) ส่วนไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮไดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน สามารถเพิ่มน้ำหนักไข่ทั้งฟอง น้ำหนักไข่แดงและน้ำหนักไข่ขาวสูงกว่าไข่ไก่กลุ่มควบคุม (P<0.05) ส่วนสีเปลือกไข่ สีไข่แดง และ Haugh Unit ของไข่ไก่ในทุกกลุ่มการทดลองมีค่าไม่ต่างกัน (P>0.05) ดังแสดงใน Table 3

เมื่อทำการวัดคุณค่าทางโภชนาในไข่ขาว ไข่แดง และไข่ทั้งฟอง รวมถึงวัดค่าการสะสมคอเลสเตอรอลและกรดไขมันในไข่แดงพบว่า ไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮไดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน มีค่าโปรตีนหยาบในไข่แดง และไข่ทั้งฟองสูงกว่าไข่ไก่กลุ่มควบคุม (P<0.05) ส่วนคุณค่าทางโภชนา คือ วัตถุประสงค์ อินทรียัดดู ไขมันรวม คาร์โบไฮเดรต และพลังงานรวมในไข่ขาว ไข่แดง และไข่ทั้งฟองของไข่ไก่ทุกกลุ่มการทดลองมีค่าไม่ต่างกัน (P>0.05) ดังแสดงใน Table 4 ส่วนการสะสมคอเลสเตอรอลและกรดไขมันในไข่แดงพบว่า ไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และไข่ไก่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮไดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน มีการสะสมของกรดไขมัน Linolenic acid (C18:3n3) DHA และกรดไขมันโอเมก้า 3

สูงกว่าไก่ไข่ที่ได้รับอาหารควบคุม ($P < 0.05$) ทั้งนี้ยังพบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมบีเทนแอนไฮดรส์ในอาหารที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน มีการสะสมของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน กรดไขมัน Linoleic acid (C18:2n6) และ Arachidonic acid (C20:4n6) สูงกว่าไก่ไข่ที่ได้รับอาหารควบคุม ($P < 0.05$) ส่วนระดับคอเลสเตอรอล กรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว สัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัว ค่าไอโอดีน ค่าดัชนีการเกิดภาวะไขมันสะสมในเส้นเลือด (Atherogenic index) Δ -9 desaturase (16) index และ Δ -9 desaturase (18) index ในไข่แดงของไข่ไก่ทุกกลุ่มการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของบีเทนทั้งสองชนิดในการลดสัดส่วนของ H/L ratio และเพิ่มลักษณะที่ดีขององค์ประกอบกรดไขมันในเลือด การพัฒนาคุณภาพทางกายภาพของไข่ไก่ คุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่ และการสะสมกรดไขมันในไข่แดง กล่าวคือ การทดลองครั้งนี้ทำการเลี้ยงไก่ไข่ในสภาพโรงเรือนเปิดซึ่งมีความผันแปรของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตามสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังทำการทดลองในช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน ที่อุณหภูมิในระหว่างวันค่อนข้างสูงเกินกว่า 35°C. ซึ่งไก่ไข่ทดลองมีความเสี่ยงต่อการเกิดสภาวะเครียดอันเนื่องมาจากความร้อน โดยความเครียดมีผลต่อการกระตุ้นให้ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระส่งผลให้ร่างกายเสียสมดุลรีดอกซ์ ทำให้เกิดความเครียดจากสภาวะออกซิเดชันและอนุมูลอิสระจะเข้าทำลายองค์ประกอบของเซลล์ เช่น โปรตีน ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ เป็นต้น ทำให้เซลล์ทำหน้าที่ผิดปกติ (Droge, 2002) ซึ่งเมื่อสัตว์เครียดฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์จะหลังเพิ่มขึ้นส่งผลทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดเฮทโทโรฟิลเจริญเต็มที่และถูกปลดปล่อยมาจากไขกระดูก (Bone marrow) เข้าสู่กระแสเลือด ขณะที่เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์มีปริมาณลดลงเนื่องจากถูกเคลื่อนย้ายกลับไปยังไขกระดูกและ

เนื้อเยื่อน้ำเหลือง (วิโรจน์, 2538) Lentfer *et al.* (2015) รายงานถึงการวัดอัตราส่วนของ Heterophils ต่อ Lymphocytes (H/L) ในการตอบสนองต่อความเครียดเป็นเครื่องมือมาตรฐานสำหรับการประเมินความเครียดระยะยาวในไก่ไข่ ซึ่งการทดลองครั้งนี้พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารเสริมบีเทนทั้งสองแหล่งมีค่าสัดส่วนของ H/L ในเลือดต่ำกว่าไก่ไข่กลุ่มควบคุม สอดคล้องกับรายงานของ Altan *et al.* (2000) รายงานว่า สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียดจะมีการหลั่งฮอร์โมนหลายชนิด เช่น คอร์ติซอล (Cortisol) เป็นต้น ซึ่งมีผลกดภูมิคุ้มกันโรคของร่างกายทำให้ค่า H/L ratio เพิ่มสูงขึ้น ทั้งยังทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น ด้วยการกระตุ้นเซลล์ตับให้เปลี่ยนกรดไขมันและกรดอะมิโนบางชนิดให้เป็นกลูโคส และเก็บสะสมไว้ในรูปของไกลโคเจน (Gluconeogenesis) เรียกว่า กลูโคส สparing เอฟเฟกต์ (Glucose sparing effect) ซึ่งเป็นขบวนการที่สำคัญเพราะจะมีผลในการสำรองน้ำตาลกลูโคสไว้ใช้งานได้ตลอดเวลา

ความเครียดของไก่ไข่มักเกิดขึ้นเมื่อได้รับสิ่งเร้าจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ช่วงแสง อายุ และน้ำหนักตัว เป็นต้น อีกทั้งโดยปกติแล้วความเครียดของไก่ไข่จากความร้อนส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และทำให้ได้ผลผลิตเป็นอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระจะเข้าทำลายผนังเซลล์เนื่องจากผนังเซลล์ประกอบด้วยไขมัน ส่งผลทำให้มีปริมาณของอนุมูลอิสระมากขึ้นทำให้เกิดสภาวะไม่สมดุลและทำให้เกิดสภาวะ Oxidative stress ซึ่งสภาวะนี้อนุมูลอิสระที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สร้างผลเสียต่อร่างกาย คือ เป็นสาเหตุที่ทำให้ความเข้มข้นของน้ำในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น เกิดแรงดันออสโมติกและส่งผลให้เซลล์สูญเสียน้ำ ดังนั้นกระบวนการเมตาบอลิซึมจะถูกขัดขวางและไก่ไข่จะใช้พลังงานส่วนที่ใช้สำหรับสร้างผลผลิตมาใช้เพื่อการบำรุงรักษาแทน เมื่อไก่ไข้อยู่ในสภาวะขาดน้ำ (Dehydrate) และน้ำถูกขับออกจากร่างกายมากขึ้นไก่ไข่ต้องกินน้ำมากขึ้นตามและเซลล์ร่างกายจะเสียสภาพอย่างรวดเร็ว ส่งผลทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตเพราะต้องใช้พลังงานเพื่อรักษาการเสื่อมสภาพของเซลล์ และ

หากมีความเครียดเพิ่มขึ้นอาจทำให้ไก่ไข่ช็อคตายได้ (Heatstroke) (Amerah and Ravindran, 2015) ดังนั้นไก่ไข่จำเป็นต้องใช้พลังงานจำนวนมากมารักษาสมดุลของน้ำในเซลล์และรักษาสภาพร่างกายให้เป็นปกติ ทั้งนี้ Albuquerque *et al.* (2017) รายงานว่า บีเทนจะเข้าไปช่วยรักษาสมดุลน้ำภายในเซลล์ โดยบีเทนเป็นสารประกอบของหมู่เมทิลร่วมกับกรดอะมิโนไกลซีนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของโคลีน (Choline) ซึ่งเป็นตัวกลางให้หมู่เมทิลในกระบวนการเมตาบอลิซึม เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นผู้ให้หมู่เมทิล (Methyl donor) จึงมีความจำเป็นในปฏิกิริยาชีวเคมีของเมทไธโอนีน (Methionine) และโฮโมซิสทีน (Homocysteine) ทำให้ช่วยลดระดับโฮโมซิสทีน

ในพลาสมาและช่วยการทำงานของตับที่เกี่ยวข้องกับไขมันให้ดีขึ้นอีกทั้งยังช่วยรักษาความสมดุลภายในเซลล์ (Osmoprotectant) ทั้งนี้เมื่อเซลล์ยังอยู่ในภาวะสมดุลเมื่อดัดแปลงจึงเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่า ส่งผลต่อค่าของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮโมโกลินลดลงแต่ลิโปไลด์เพิ่มขึ้น และแปรผันตรงต่อค่า H/L ratio เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่ทำการเสริมบีเทนในอาหารไก่เนื้อ (Sayed and Downing, 2011) และอาหารเป็ด Awad *et al.* (2014) รายงานว่า การเสริมบีเทนมีผลทำให้จำนวนลิโปไลด์เพิ่มขึ้น จำนวนเฮโมโกลินลดลง และ H/L ratio ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Table 3 Effect of betaine supplementation in laying hen diets on physical quality of eggs

Physical quality of eggs	Betaine supplementation in laying hen diets*			SEM	P-value
	Control	BC (2kg/ton)	BA (2kg/ton)		
Shell color	17.66±0.76	17.73±0.09	18.72±0.59	0.197	0.12
Egg weight (g)	53.80 ^b ±0.69	56.23 ^a ±0.81	58.64 ^a ±0.16	0.22	0.01
Shell weight (g)	7.48 ^b ±1.37	7.77 ^a ±0.90	7.55 ^{ab} ±0.09	0.03	0.04
Shell density	112.27±1.56	112.97±0.75	111.77±2.18	0.55	0.68
Yolk weight (g)	13.16 ^b ±0.40	14.27 ^{ab} ±0.09	15.72 ^a ±2.01	0.51	0.04
Albumin weight (g)	33.16 ^b ±0.39	34.18 ^a ±0.68	35.43 ^a ±1.99	0.17	0.04
Albumin height (mm)	9.70 ^b ±0.11	10.51 ^a ±0.50	9.94 ^{ab} ±0.11	0.08	0.02
Haugh Unit	98.46±0.59	99.08±1.51	99.08±4.22	0.73	0.72
Yolk color	12.70±0.06	12.58±0.02	12.75±0.15	0.02	0.06

*BA = Betaine Anhydrous and BC = Betaine Hydrochloride

^{a,b} Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.05).

นอกจากนี้ผลการทดลองครั้งนี้ยังแสดงผลที่น่าสนใจเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักไข่ทั้งฟอง น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว ความสูงของไข่ขาว และระดับของโปรตีนในไข่แดง และไข่ขาวของไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมบีเทนทั้งสองชนิด ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้ บีเทนสามารถลดเมทไธโอนีน (Methionine) เมื่อมีภาวะขาดแคลนเมทไธโอนีนในอาหาร (Sun *et al.*, 2008) โดยการเสริมบีเทน

สามารถเพิ่มการเปลี่ยนแปลง Adenosyl-homocysteine-like1 ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาให้โฮโมซิสทีน (Homocysteine) (Abobaker *et al.*, 2017) นอกจากนี้ บีเทนโฮโมซิสทีนเมทิลทรานเฟอร์ส (Betaine homocysteine methyltransferase; BHMT) มีส่วนสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาให้โฮโมซิสทีนเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีน (Idriss *et al.*, 2017) ซึ่งเมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่มีกรดเป็นอันดับแรก

(First limiting amino acid) ในสัตว์ปีกมีบทบาทสำคัญสำหรับการเจริญเติบโต การเมตาบอลิซึมของเนื้อเยื่อ และการสร้างฟองไข่ ซึ่งเมทิลโฮโมโนทำหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีน โดยเป็นกรดอะมิโนตัวแรกที่ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนบนสายอาร์เอ็นเอ (RNA) หลังจากนั้นกรดอะมิโนแต่ละชนิดจะถูกนำมาต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์อย่างมีระเบียบ และถูกควบคุมโดยดีเอ็นเอ (DNA) ในนิวเคลียสและอาร์เอ็นเอ (RNA) ที่อยู่ในไซโตพลาสซึม ซึ่งเมื่อมีการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้น โปรตีนเหล่านี้หากมีปริมาณ

มากเกินไปที่จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโต โปรตีนก็จะถูกนำไปใช้ในการสร้างผลผลิตไข่ และมีการสะสมโปรตีนในไข่แดงและไข่ขาวในระหว่างกระบวนการสร้างฟองไข่ ส่งผลทำให้ไข่ไก่มีน้ำหนักไข่แดงและน้ำหนักไข่ขาวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เมื่อมีระดับของโปรตีนในไข่ขาวมากขึ้นยังส่งผลทำให้สามารถเพิ่มความสูงของไข่ขาว เนื่องจากไข่ขาวประกอบด้วยโปรตีนมากกว่า 95% ทั้งนี้ การสะสมโปรตีนในไข่ขาวมักแปรผันตรงต่อการเพิ่มความเข้มข้นให้ไข่ขาวและส่งผลต่อความสูงของไข่ขาวที่เพิ่มขึ้น

Table 4 Effect of betaine supplementation in laying hen diets on egg nutritive value

Nutritive value in egg (%)	Betaine supplementation in laying hen diets*			SEM	P-value
	Control	BC (2kg/ton)	BA (2kg/ton)		
Albumin					
Dry matter	13.10±1.29	13.18±1.23	15.56±0.55	0.43	0.13
Organic matter	99.25±0.03	99.24±0.01	99.23±0.02	0.006	0.72
Crude protein	11.32±0.06	11.40±0.01	11.38±0.01	0.13	0.22
Ether extract	0.01±0.001	0.01±0.006	0.01±0.001	0.001	0.26
Total carbohydrate	0.86±0.04	0.78±0.05	0.80±0.03	0.01	0.22
Gross energy (kcal/kg)	489.73±1.67	487.01±0.99	489.06±1.63	0.59	0.26
Yolk					
Dry matter	50.56±3.71	52.44±2.96	50.28±2.89	1.24	0.75
Organic matter	97.88±0.04	97.82±0.12	97.76±0.16	0.04	0.61
Crude protein	14.91 ^b ±0.09	15.17 ^a ±0.11	15.23 ^a ±0.10	0.02	0.04
Ether extract	29.09±0.17	29.13±0.48	29.50±0.12	0.08	0.21
Total carbohydrate	1.57±0.34	1.36±0.18	1.13±0.02	0.08	0.23
Gross energy (kcal/kg)	3,277.63±15.56	3,283.66±38.20	3,309.91±8.39	5.21	0.13
Egg					
Dry matter	26.12±1.63	27.32±2.26	26.92±1.86	0.75	0.46
Organic matter	99.02±0.15	98.93±0.05	98.89±0.15	0.02	0.21
Crude protein	13.40 ^b ±0.05	13.84 ^a ±0.04	13.93 ^a ±0.04	0.05	0.04
Ether extract	8.49±0.17	8.44±0.53	8.59±0.27	0.14	0.90
Total carbohydrate	1.94±0.21	2.18±0.49	1.82±0.01	0.08	0.29
Gross energy (kcal/kg)	1,378.82±9.39	1,376.88±26.99	1,375.48±23.29	8.50	0.98

*BA = Betaine Anhydrous and BC = Betaine Hydrochloride

^{a,b}Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.05).

Table 5 Effect of betaine supplementation in laying hen diets on yolk cholesterol and fatty acid profile

Yolk cholesterol and fatty acid profile (g/100 g total fat)	Betaine supplementation in laying hen diets*			SEM	P-value
	Control	BC (2kg/ton)	BA (2kg/ton)		
Cholesterol	1275.99 ^b ±63.72	1492.29 ^a ±68.54	1326.86 ^a ±60.49	55.38	0.93
Total saturated fatty acid	8.48±0.10	8.84±0.10	8.42±0.34	0.69	0.07
Myristic acid (C14:0)	0.08±0.01	0.09±0.01	0.09±0.01	0.001	0.08
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.001	0.19
Palmitic acid (C16:0)	6.42±0.19	6.61±0.04	6.54±0.26	0.05	0.40
Margaric acid (C17:0)	0.06±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01	0.01	0.13
Stearic acid (C18:0)	1.89±0.10	2.04±0.15	1.68±0.07	0.04	0.06
Arachidonic acid (C20:0)	0.01±0.001	0.02±0.001	0.02±0.001	0.0001	0.27
Total monounsaturated fatty acid	12.28±1.04	12.77±0.81	13.22±0.20	0.31	0.51
Myristoleic acid (C14:1)	0.01±0.001	0.02±0.001	0.02±0.001	0.0001	0.27
Palmitoleic acid (C16:1n7)	0.69±0.07	0.79±0.07	0.81±0.01	0.02	0.20
Vaccenic acid (C18:1n7c)	10.84±0.89	11.19±0.69	11.59±0.20	0.26	0.56
Oleic acid (C18:1n9)	0.60±0.06	0.62±0.05	0.65±0.01	0.02	0.58
Eicosenoic acid (C20:1n9)	0.08±0.02	0.09±0.01	0.09±0.01	0.002	0.16
Nervonic acid (C24:1w9)	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.001	0.16
Total polyunsaturated fatty acid	5.60 ^b ±0.03	5.65 ^b ±0.55	6.00 ^a ±0.26	0.28	0.02
Linoleic acid (C18:2n6)	4.73 ^b ±0.03	4.71 ^b ±0.05	4.98 ^a ±0.06	0.21	0.04
Linolenic acid (C18:3n3)	0.09 ^b ±0.02	0.12 ^a ±0.01	0.13 ^a ±0.01	0.13	0.02
C20:3n6	0.05±0.01	0.04±0.01	0.05±0.17	0.03	0.16
DGLA (C20:2n6)	0.06±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.002	0.16
Arachidonic acid (C20:4n6)	0.55 ^b ±0.03	0.59 ^{ab} ±0.01	0.64 ^a ±0.04	0.17	0.03
DHA (C22:6n3)	0.13 ^b ±0.01	0.15 ^a ±0.01	0.16 ^a ±0.02	0.01	0.04
Total n ³ ¹	0.20 ^b ±0.01	0.23 ^a ±0.01	0.24 ^a ±0.02	0.15	0.04
Total n ⁶ ²	5.40±0.43	5.43±0.25	5.76±0.42	0.13	0.51
Total n ⁹ ³	0.70±0.08	0.73±0.05	0.75±0.01	0.02	0.62
n ³ /n ⁶ ratio ⁴	0.04±0.03	0.04±0.01	0.04±0.05	0.01	0.06
SFA/USFA ratio ⁵	0.47±0.13	0.48±0.22	0.44±0.31	0.21	0.64
Iodine value	18.98±1.23	19.45±2.04	20.33±2.24	0.87	0.09
Atherogenic index	0.37±0.02	0.37±0.02	0.35±0.01	0.003	0.35
Δ-9 desaturase (16) index	9.75±0.56	10.65±0.23	11.03±0.51	0.18	0.11
Δ-9 desaturase (18) index	24.13±2.79	23.32±2.71	27.12±2.80	0.93	0.22

*BA = Betaine Anhydrous and BC = Betaine Hydrochloride, ^{a,b}Mean with symbol with in same row differ significantly (P<0.05).

¹Total PUFA = Total Polyunsaturated Fatty Acid, ²Total n³ = Omega-3 fatty acid, ³Total n⁶ = Omega-6 fatty acid, ⁴Total n⁹ = Omega-9 fatty acid, ⁵T n³/n⁶ ratio = Omega-3 fatty acid/Omega-6 fatty acid, ⁶SFA/USFA ratio = saturated fatty acid/unsaturated fatty acid

นอกจากนี้ ผลการทดลองที่เกี่ยวกับการปรับปรุงองค์ประกอบของไขมันในเลือด คือ การเพิ่มขึ้นของระดับ HDL และกรดไขมันอิสระ รวมถึงการลดลงของระดับคอเลสเตอรอลรวมและไตรกลีเซอไรด์ หากแต่การสะสมของระดับคอเลสเตอรอลรวมกลับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอธิบายได้จากข้อสันนิษฐานทางวิทยาศาสตร์ คือ บีเทนมีอิทธิพลต่อการเผาผลาญคอเลสเตอรอล โดยเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGCR) จัดเป็นเอนไซม์ที่สำคัญสำหรับการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล และตัวรับ LDL และ HDL ที่มีหน้าที่ในการขนส่งของส่วนประกอบไลโปโปรตีนเข้าสู่เซลล์ ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ Abobaker *et al.* (2017) ที่รายงานว่า การเสริมบีเทนไม่มีผลต่อการสะสมคอเลสเตอรอลในไข่แดง ($P>0.05$) หากแต่ทำให้การสะสมของคอรัทีคอร์สเตอรอลในไข่แดงสูงกว่ากลุ่มควบคุม และพบการสะสมของคอเลสเตอรอลในต่อมหมวกไตชั้นนอกต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อีกทั้งยังพบการเปลี่ยนแปลงยีนควบคุม Glucocorticoid receptor และ DNA methyltransferase ซึ่งผลการทดลองของ Abobaker *et al.* (2017) สามารถนำมาใช้อ้างอิงได้ว่า ไก่ไข่ที่ได้รับบีเทนมีระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงใกล้เคียงกัน แต่ระดับของคอรัทีคอร์สเตอรอลในไข่แดงสูงกว่ากลุ่มควบคุม อาจเกิดจากการกลไกการนำคอเลสเตอรอลในเลือดของไก่ไข่ไปใช้ เพื่อสังเคราะห์ฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตส่วนนอก เช่น คอรัทีคอร์สเตอรอล คอรัทีซอล โปรเจสเตอรอล และเอสโตเจน เป็นต้น ส่วน Albuquerque *et al.* (2017) รายงานว่าการเสริมบีเทนทำให้มีการสะสมคอเลสเตอรอลในเนื้อสุกรส่วน *L. Lumbolum* และ *B. femaris* สูงกว่ากลุ่มควบคุม

นอกจากนี้ การเสริมบีเทนสามารถเพิ่มการสะสมกรดไขมันเชิงซ้อนสายยาว DHA และโอเมก้า 3 ในไข่แดงของไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมบีเทนทั้งสองชนิดนั้น สอดคล้องกับหลายงานวิจัยได้รายงานไว้ว่า บีเทนสามารถให้หมู่เมทิลแก่ Dimethyl ethanolamine เปลี่ยนแปลงเป็น Trimethyl ethanolamine สำหรับการสังเคราะห์เลซิติน (Wang *et al.*, 2004) อีกทั้งบีเทนสามารถให้หมู่เมทิลทำให้โอเมกซิสทินเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีน และเอซอะดีโนซิลเมทไธโอนีน

ซึ่งเป็นหมู่เมทิลที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์คาร์นิทีน (Carnitine) (Cadogan *et al.*, 1993) ซึ่งเลซิตินและคาร์นิทีนมีส่วนสำคัญในการส่งเสริมดูดซึมอาหารและกระบวนการสลายไขมันเป็นพลังงาน โดยเลซิตินมีคุณสมบัติในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์มีหน้าที่ช่วยในการขนส่งของไขมันผ่านเยื่อบุลำไส้ ส่วนคาร์นิทีนทำหน้าที่ในการลำเลียงขนส่งกรดไขมันสายยาว (Long chain fatty acids) จาก Cytosol เข้าไปเผาผลาญใน Mitochondrial matrix เพื่อเปลี่ยนให้เป็นพลังงาน (ATP) และส่งผลทำให้ลดการสะสมไขมันในร่างกาย จากรายงานของ Huang *et al.* (2008) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ Lipogenesis เช่น Acetyl-CoA Carboxylase (ACC), Malic Enzyme (ME), Fatty Acid Synthase (FAS) และ Stearoyl-CoA (Δ^9) Desaturase 1 (SCD1) เป็นต้น ล้วนมีส่วนช่วยควบคุมการเผาผลาญของไขมันในตับ ช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ และช่วยเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลที่ดีในกระแสเลือด นอกจากนี้ ผลการทดลองพบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมบีเทนมีปริมาณคอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นเนื่องจากอิทธิพลของยีน Sterol Regulatory Element-Binding Protein (SREBP) ซึ่งเป็น Transcription factor ที่ควบคุมการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ LDL receptor ซึ่งเป็นตัวรับคอเลสเตอรอลเข้าสู่เซลล์ อีกทั้ง SREBP ยังควบคุมเอนไซม์ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เช่น Cholesterol 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A synthase และ HMG reductase เป็นต้น (ภัทรบุต, มปป.) ทั้งนี้ Albuquerque *et al.* (2017) รายงานว่าการเสริมบีเทนในไก่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง SREBP-mRNA สูงกว่ากลุ่มควบคุม

สรุปผลการวิจัย

การเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และบีเทนแอนไฮไดรด์ ที่ระดับ 2 กก.ต่อตัน ในอาหารไก่ไข่ ช่วยลดสัดส่วนของ H/L ratio คอเลสเตอรอลรวม ไตรกลีเซอไรด์ และช่วยเพิ่มคอเลสเตอรอลชนิด HDL และกรดไขมันในเลือด อีกทั้งยังช่วยเพิ่มน้ำหนักฟองไข่ น้ำหนักไข่ขาว และ

น้ำหนักไข่แดงของไข่ไก่ รวมถึงสามารถเพิ่มระดับโปรตีนในไข่แดงและไข่ทั้งฟอง นอกจากนี้ การเสริมบีเทนไฮโดรคลอไรด์และบีเทนแอนไฮดรัส ยังช่วยในการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน DHA และโอเมก้า 3 ในไข่แดง ซึ่งผลประโยชน์ของการเสริมบีเทนในอาหารไก่ไข่นี้อาจเกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลของน้ำ การชดเชยเมทไธโอนีน และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในการเลี้ยงไก่ไข่ภายใต้สภาพโรงเรือนแบบเปิดในช่วงฤดูร้อน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณบริษัทบีอิงเว็ล จำกัด ที่เอื้อเพื่อผลิตภัณฑ์บีเทนไฮโดรคลอไรด์และบีเทนแอนไฮดรัสที่ใช้ในการวิจัย รวมถึงขอขอบคุณวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีเพชรบุรี และฟาร์มสัตว์ปีก ที่เอื้อเพื่อสถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ไข่ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่อำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

ภัทรบุตร มาศรัตน์. ม.ป.ป. **เมทาบอลิซึมของไลโปโปรตีน**. เอกสารประกอบการสอน. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. 15 น.
 วิโรจน์ จันทร์รัตน์. 2538. **เลือดและของเหลวในร่างกาย: กายวิภาคและสรีระวิทยาของสัตว์ปีก**. เชียงใหม่: สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. 873 น.

Abobaker, H., Y. Hu, Z. Hou, Q. Sun and A.A. Idriss. 2017. Dietary betaine supplementation increases adrenal expression of steroidogenic acute regulatory protein and yolk deposition of corticosterone in laying hens. **Poult. Sci.** 96(12): 4389-4398.

Albuquerque, A., J.A. Neves, M. Redondeiro, M. Laranjo, M.R. Félix, A. Freitas, J.L. Tirapicos and J.M. Martins. 2017. Long term betaine supplementation regulates genes involved in lipid and cholesterol metabolism of two muscles from an obese pig breed. **Meat Sci.** 124: 25-33.

Altan, O., A. Altan, M. Cabuk and H. Bayraktar. 2000. Effect of heat stress on some blood parameter in broiler. **Turk. J. Vet. and Anim Sci.** 24: 145-148.

Amerah, A.M. and V. Ravindran. 2015. Effect of coccidia challenge and natural betaine supplementation on performance, nutrient utilization, and intestinal lesion scores of broiler chickens fed suboptimal level of dietary methionine. **Poult. Sci.** 94(4): 673-680.

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis**. 17thed. Gaithersburg: The Association of official analytical chemists. 2200 p.

Awad, A.L., A.F. Ibrahim, H.N. Fahim and M.M. Beshara. 2014. Effect of dietary betaine supplementation on growth performance and carcass traits of Domyati duckling under summer conditions. **Egypt. Poult. Sci.** 34(4): 1019-1038.

- Cadogan, D.J., R.G. Campbell, D. Harrison and A.C. Edwards. 1993. The Effect of Betaine on the Growth Performance and Carcass Characteristics of Female Pigs. *In* Batterham, E.S. (Ed.) **Manipulating Pig Production**. Victoria: Australasian Pig Science Association. 219 p.
- Droge, W. 2002. Free radical in physiological control of cellular function. **Physiological Reviews** 82: 47-95.
- Elkin, R.G. and E.S. Lorenz. 2009. Feeding laying hens a bioavailable soy sterol mixture fails to enrich their eggs with phytosterols or elicit egg yolk compositional changes. **Poult. Sci.** 88(1): 152-158.
- Fu, Q., Z.X. Leng, L.R. Ding, T. Wang, C. Wen, and Y.M. Zhou. 2016. Complete replacement of supplemental DL-methionine by betaine affects meat quality and amino acid contents in broilers. **Anim. Feed Sci. and Tech.** 212: 63-69.
- He, L.W., Q.X. Meng, D.Y. Li, Y.W. Zhang and L.P. Ren. 2015. Meat quality, oxidative stability and blood parameters from Graylag geese offered alternative fiber sources in growing period. **Poult. Sci.** 94(4): 750-757.
- Huang, J., D. Yang, S. Gao and T. Wang. 2008. Effects of soy-lecithin on lipid metabolism and hepatic expression of lipogenic genes in broiler chickens. **Livest. Sci.** 118(1-2): 53-60.
- Idriss, A.A., Y. Hu, Q. Sun, L. Jia and Y. Jia. 2017. Prenatal betaine exposure modulates hypothalamic expression of cholesterol metabolic genes in cockerels through modifications of DNA methylation. **Poult. Sci.** 96(6): 1715-1724.
- Laudadio, V. and V. Tufarelli. 2011. Influence of substituting dietary soybean meal for dehulled-micronized lupin (*Lupinus albus* cv. Multitalia) on early phase laying hens production and egg quality. **Livest. Sci.** 140: 184-188.
- Lentfer, T.L., H. Pendl, S.G. Gebhardt-Henrich, E.K. Fröhlich, and E. Von Borell. 2015. H/L ratio as a measurement of stress in laying hens methodology and reliability. **Br. Poult. Sci.** 56(2): 157-163.
- Lepage, G., and C.C. Roy. 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. **J. Lipid. Res.** 27: 114-120.
- Nutrient Research Council. 1994. **Nutrient Requirement of Poultry**. 9thed. Washington, D.C: NRC.
- Park, S.O. and W.K. Kim. 2017. Effects of betaine on biological functions in meat-type ducks exposed to heat stress. **Poult. Sci.** 96(5): 1212-1218.
- Pillai, P.B., A.C. Fanatico, M.E. Blair and J.L. Emmert. 2006. Homocysteine remethylation in broilers fed surfeit choline or betaine and varying level and source of methionine from eight to twenty-two days of age. **Poult. Sci.** 85(6): 1729-1736.

- R Core Team. 2016. **R: A Language and Environment for Statistical Computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Online]. Available <http://www.R-project.org/> (1 May 2017).
- Ratriyanto, A., R. Mosenthin, R. Bauer and M. Eklund. 2009. Metabolic, osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. **Asian Aust. J. Anim. Sci.** 22(10): 1461-1476.
- Sayed, M.A.M. and J. Downing. 2011. The effects of water replacement by oral rehydration fluids with or without betaine supplementation on performance, acid-base balance, and water retention of heat-stressed broiler chickens. **Poult. Sci.** 90(1): 157-167.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1992. **Principles and Procedure Statistics.** 2ndEdn. Singapore: McGraw-Hill Book Co., Inc.
- Sun, H., W.R. Yang, Z.B. Yang, Y. Wang, S.Z. Jiang and G.G. Zhang. 2008. Effects of betaine supplementation to methionine deficient diet on growth performance and carcass characteristics of broilers. **Am. J. Anim. Vet. Sci.** 3(3): 78-84.
- Van Elswyk, M.E. 1997. Comparison of n-3 fatty acid source in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality: A review. **The Brit. J. Nutr.** 78: 61-69.
- Wang, Y.Z., Z.R. Xu and J. Feng. 2004. The effect of betaine and DL-methionine on growth performance and carcass characteristics in meat ducks. **Anim. Feed Sci. and Tech.** 116(1-2): 151-159.
- Zhai, W.S., L. Neuman, M.A. Latour and P.Y. Hester. 2008. The effect of male and female supplementation of l-Carnitine on reproductive traits of white leghorns. **Poult. Sci.** 87(6): 1171-1181.
- Zhao, P.Y. and I.H. Kim. 2017. Effect of diets with different energy and lysophospholipid levels on performance, nutrient metabolism, and body composition in broilers. **Poult. Sci.** 96(5): 1341-1347.